饲料花生四烯酸水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能、抗氧化能力、血清生化指标以及肝脏和肌肉脂肪酸组成的影响

王成强[1]　王际英[1*]　黄炳山[1]　李宝山[1]　孙永智[1]　王晓艳[1]　马长兴[2]

(1.山东省海洋资源与环境研究院，山东省海洋生态修复重点实验室，烟台 264006；

2.上海海洋大学水产与生命学院，上海 201306)

摘　要：本试验旨在研究饲料花生四烯酸(ARA)水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能、抗氧化能力、血清生化指标以及肝脏和肌肉脂肪酸组成的影响。通过在基础饲料中添加 ARA 纯化油，制成 ARA 水平分别为 0.04%、0.17%、0.35%、0.66%、1.29%和 2.16%(干物质基础)的等氮等脂的试验饲料(分别命名为 S1、S2、S3、S4、S5 和 S6)。将上述饲料投喂初始体重为(23.77±0.98) g 的珍珠龙胆石斑鱼幼鱼，每种饲料设 3 个重复，每个重复投喂 30 尾鱼，试验期为 8 周。结果表明：1）特定生长率(SGR)和饲料效率(FE)随饲料 ARA 水平的升高均呈先升高后降低的趋势，且 SGR 和 FE 均在 S4 组有最大值，均显著高于 S1 组(P<0.05)。全鱼和肝脏粗脂肪含量均在 S3 组最低，显著低于 S5 和 S6 组(P<0.05)。2）S4 组肝脏超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性和总抗氧化能力(T-AOC)与 S3 组差异不显著(P>0.05)，但显著高于 S1 与 S6 组(P<0.05)。S3 与 S4 组肝脏丙二醛(MDA)含量显著低于 S1 和 S6 组(P<0.05)。3）血清中谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)和碱性磷酸酶(AKP)活性均在 S4 组最低，且显著低于 S1 与 S6 组(P<0.05)。4）肝脏和肌肉中 C20:3n-6 和 C20:4n-6 含量随饲料 ARA 水平的提高而显著升高(P<0.05)，而 C18:3n-6、C20:5n-3 和 C22:6n-3 含量则随之有不同程度的下降。由此得出，饲料中适宜水平(0.35%~0.66%)的 ARA 能够促进珍珠龙胆石斑鱼幼鱼的生长，提高抗氧化能力与肝脏健康水平，以 SGR 与 FE 作为评价指标，经折线模

收稿日期：2018-03-07

基金项目：山东省重点研发计划(2016GSF115005)；山东省科学自然基金(ZR2015CQ023)；烟台市科技发展计划(2016ZH068)

作者简介：王成强(1988-)，山东潍坊人，研究实习员，硕士，研究方向为水产动物营养。E-mail: chengqiangwang@126.com

[*] 通信作者：王际英，研究员，硕士生导师，E-mail: ytwjy@126.com

型回归分析得出珍珠龙胆石斑鱼幼鱼饲料中 ARA 的适宜水平分别为饲料干重的 0.45%和 0.56%。

关键词：珍珠龙胆石斑鱼；花生四烯酸；生长性能；血清生化指标；脂肪酸组成

中图分类号：S936　　　　文献标识码：A　　　　文章：

长链多不饱和脂肪酸(LC-PUFA)在调节鱼类生长性能、免疫性能、细胞膜结构、繁育性能及脂质代谢方面都具有重要意义[1-3]。在过去的研究中，大多数有关 LC-PUFA 对海水动物生长与生理功能的研究主要集中于 n-3 LC-PUFA，特别是 C22:6n-3(DNA) 和 C20:5n-3(EPA)[4-5]。而花生四烯酸(arachidonic acid,ARA)作为一种重要的 n-6 LC-PUFA，由于同 DHA 和 EPA 相比，其在鱼类组织中不占主导地位，从而使得 ARA 在鱼类营养中处于被忽视的地位[6]。但是，近年来众多研究发现，ARA 代谢过程中能够形成多种高生物活性的类烯酸物质，主要包括前列腺素(prostaglandins,PGs)、血栓素(thromboxane,TX)和白三烯(leukotreines,LTs)[7]，这些生物活性物质在动物体内能够调节一系列重要的生理代谢，可对机体生长发育、免疫性能等方面产生重要的影响。

研究发现，饲料中 ARA 能够对海水动物的生长和存活具有一定的促进作用，同时会影响鱼体脂肪沉积及脂肪酸组成[8-9]。另外，ARA 还能够调节鱼体的抗氧化能力及免疫功能，保证鱼体的健康[10-11]。在对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)[12]、半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)[13]等的研究中均证实，ARA 在调节鱼体非特异性免疫能力方面具有重要作用，同时能够增强仔稚鱼抗应激能力[14-15]；在对刺参(*Apostichopus japonicus*)的研究中也表明 ARA 能够提高刺参的生长性能和抗氧化能力，以及影响体壁的脂肪酸组成[16]；左然涛等[17]研究表明，适量 ARA 能够促进中间球海胆(*Strongylocentyotus intermedius*)的生长和性腺发育，同时能够影响其肠道的菌群结构。

珍珠龙胆石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀×*Epinephelus lanceolatus* ♂)是由龙胆石斑鱼雄性和老虎斑雌性杂交出的新品种，其生长迅速、肉质鲜美、抗病能力强，具有较高的市

场价值，是广东、福建沿海一带深受欢迎的养殖品种。目前，关于珍珠龙胆石斑鱼营养方面的研究已有一些报道，主要集中在蛋白质和氨基酸营养、鱼粉替代、矿物质营养等方面[18-21]，而关于脂肪酸营养方面的研究较少，同时尚未见有关珍珠龙胆石斑鱼 ARA 营养方面的研究报道。因此，本试验通过研究饲料中不同 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼生长性能、抗氧化能力、血清生化指标及组织脂肪酸组成的影响，为确定 ARA 在珍珠龙胆石斑鱼配合饲料中的添加量提供一定的基础数据，也为初步阐述 ARA 对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼机体免疫及脂肪酸代谢的影响奠定理论基础。

1　材料与方法

1.1　试验设计及试验饲料制备

以鱼粉和酪蛋白为主要蛋白质源，小麦粉和α-淀粉为主要糖源，并补充矿物质、维生素和 DHA 纯化油(武汉嘉必优生物技术股份有限公司提供)等，配制基础饲料。在此基础上，通过调整 ARA 纯化油(武汉嘉必优生物技术股份有限公司提供)的添加量制成 ARA 水平分别为 0.04%、0.17%、0.35%、0.66%、1.29%和 2.16%(干物质基础)的等氮等脂的 6 种试验饲料(表 1)，以硬脂酸甘油三酯进行调平。6 种试验饲料分别命名为 S1、S2、S3、S4、S5 和 S6，其中 S1 作为对照，试验饲料脂肪酸组成见表 2。所有饲料原料均粉碎过 80 目筛，依据试验配方，按照配比从小到大逐级均匀混合，随后加入油脂与干粉充分混匀，之后再加入适量蒸馏水再次混合均匀，混匀后的原料均匀分为 2 份，分别挤压制成直径为 2.5 和 3.5 mm 的 2 种硬颗粒饲料，50℃左右烘干后，置于通风干燥处备用。

表 1　试验饲料组成及营养水平(干物质基础)

Table 1　Composition and nutrient levels of experimental diets (DM basis)　　%

项目 Items	饲料 Diets					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6

原料 Ingredients						
鱼粉 Fish meal	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00	48.00
小麦粉 Wheat meal	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
α-淀粉 α-starch	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
酪蛋白 Casein	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00
维生素预混料 Vitamin premix[1)]	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
矿物质预混料 Mineral premix[2)]	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
磷酸二氢钙 $Ca(H_2PO_4)_2$	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
维生素 C Vitamin C	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
氯化胆碱 Choline chloride	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
乙氧基喹啉 Ethoxyquin	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
大豆卵磷脂 Soy lecithin	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
DHA 纯化油 DHA-enrich oil	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50
ARA 纯化油 ARA-enrich oil		0.37	0.73	1.46	2.93	4.85
硬脂酸甘油三酯 Tristearin	6.00	5.63	5.27	4.54	3.07	1.15
微晶纤维素 Microcrystalline cellulose	1.45	1.45	1.45	1.45	1.45	1.45
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels						
粗蛋白质 CP	51.01	50.91	51.18	50.91	50.70	50.75
粗脂肪 EE	11.68	11.40	11.81	11.24	11.11	11.06
粗灰分 Ash	12.10	12.08	12.16	12.09	12.23	12.12

花生四烯酸 ARA	0.04	0.17	0.35	0.66	1.29	2.16

[1)] 每千克维生素预混料含有 Contained the following per kg of vitamin premix：VA 3 000 000 IU，VD 1 200 000 IU，VE 6 000 mg，VK_3 12 mg，VB_1 3 000 mg，VB_2 2 000 mg，VB_{12} 8 mg，泛酸 pantothenic acid 20 mg，烟酸 nicotinic acid 5 000 mg，叶酸 folic acid 500 mg，*D*-生物素 *D*-biotin 50 mg，肌醇 inositol 6 000 mg，VC 3 000 mg。

[2)] 每千克矿物质预混料含有 Contained the following per kg of mineral premix：Cu 2 000 mg，Se 30 mg，Fe 6 000 mg，Co 500 mg，I 200 mg，Zn 2 000 mg。

表 2　试验饲料脂肪酸组成(占总脂肪酸的百分比)

Table 2　Fatty acids composition of experimental diets (percent of total fatty acids）　%

脂肪酸 Fatty acids	饲料 Diets					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
C14:0	1.38	1.36	1.38	1.45	1.53	1.62
C16:0	6.26	6.35	6.65	7.26	8.32	9.83
C18:0	60.26	57.88	55.40	49.23	35.07	20.28
C20:0	0.46	0.45	0.47	0.48	0.48	0.49
SFA	68.36	66.05	63.90	58.42	45.40	32.23
C16:1n-7	1.06	1.01	1.01	1.05	1.09	1.18
C18:1n-9	3.89	3.93	4.07	4.49	5.36	6.57
C18:1n-7	1.06	1.04	0.95	0.99	1.08	1.20
C22:1n-9	2.49	2.48	2.51	2.61	2.70	2.86
MUFA	8.50	8.46	8.54	9.13	10.24	11.80
C18:2n-6	3.49	3.63	4.01	4.54	5.72	7.33
C18:3n-6	3.18	3.16	3.19	3.33	2.99	2.65

C20:3n-6		0.17	0.29	0.56	1.07	1.77
C20:4n-6	0.35	1.53	2.77	5.40	11.15	19.29
n-6 PUFA	7.02	8.49	10.27	13.82	20.93	31.03
C18:3n-3	0.55	0.52	0.54	0.54	0.57	0.55
C20:5n-3	4.18	4.13	4.11	4.15	4.30	4.50
C22:5n-3	0.84	0.86	0.85	0.85	1.00	1.08
C22:6n-3	7.59	7.59	7.62	7.53	7.86	8.19
n-3 PUFA	13.15	13.10	13.13	13.06	13.73	14.32
PUFA	20.17	21.59	23.39	26.88	34.66	45.35
n-3/n-6	1.87	1.54	1.28	0.94	0.66	0.46

SFA：饱和脂肪酸；MUFA：单不饱和脂肪酸；n-6 PUFA：n-6 系列多不饱和脂肪酸；n-3 PUFA：n-3 系列多不饱和脂肪酸；PUFA 主要包括：C18:2n-6、C18:3n-6、C20:3n-6、C20:4n-6、C18:3n-3、C20:5n-3、C22:5n-3 和 C22:6n-3。

SFA: saturated fatty acids; MUFA: mono-unsaturated fatty acids; n-6 PUFA: n-6 poly-unsaturated fatty acids; n-3 PUFA: n-3 poly-unsaturated fatty acids; PUFA mainly included: C18:2n-6, C18:3n-6, C20:3n-6, C20:4n-6, C18:3n-3, C20:5n-3, C22:5n-3 and C22:6n-3.

1.2　试验用鱼及养殖管理

养殖试验在山东省海洋资源与环境研究院东营试验基地进行，试验用鱼为该基地当年繁育的同一批珍珠龙胆石斑鱼幼鱼，试验期为 8 周。首先将试验鱼放置于养殖桶中，用对照组(S1)饲料暂养 15 d，使其适应养殖环境。试验开始前，将其饥饿 24 h，选取规格均匀、体色健康的珍珠龙胆石斑鱼幼鱼[平均体重为(23.77±0.98) g]，随机放置于 18 个养殖桶(直径 75 cm，深度 80 cm)内。每个桶内放置 30 尾幼鱼，每种试验饲料投喂 3 个养殖桶(重复)，养殖方式为循环水养殖。试验期间每天在 08:30 和 16:30 各饱食投喂 1 次，投喂 30 min 后，将残

饵吸出，并记录残饵数量。试验期间水温控制在(27±1) ℃，溶氧浓度>6.2 mg/L，盐度为23.5~26.5，pH 7.5~8.0，氨氮和亚硝酸氮浓度均<0.1 mg/L。

1.3 样品收集

8 周养殖试验结束后，将试验鱼饥饿 24 h，然后对每个养殖桶中的试验鱼进行计数和称重。之后，从每个养殖桶中随机取出 8 尾鱼，其中 3 尾用于全鱼常规营养成分分析，放置于-20 ℃冰柜进行保存。将剩余 5 尾鱼进行解剖，分离出肝脏、肠道和肌肉等组织，放入离心管中后迅速转移到液氮中速冻。每个养殖桶另随机取 5 尾鱼，先采用尾部静脉取血法进行取血，取出的血液 4 ℃静止 4 h，3 000 r/min 离心 10 min，小心将血清吸出后迅速放入液氮中。每个养殖桶另随机取 3 尾鱼测量每尾鱼体长、体重，用于计算肥满度(CF)，之后解剖取其肝脏和内脏团并称重，计算试验鱼的肝体比(HSI)和脏体比(VSI)。样品采集完成后运回实验室，放置于-80℃超低温冰箱中保存，用于后期试验分析。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 生长指标

存活率(SR，%)=100×终末尾数/初始尾数；

增重率(WGR，%)=100×(终末体重-初始体重)/初始体重；

特定生长率(SGR，%/d)=100×(ln 终末体重-ln 初始体重)/试验天数；

饲料效率(FE，%)=100×(终末体重–初始体重)/摄食饲料干重；

HSI(%)=100×试验鱼肝脏湿重/试验鱼体重；

VSI(%)=100×试验鱼内脏湿重/试验鱼体重；

CF(%)=100×试验鱼体重/试验鱼体长^3 (体重单位：g，体长单位：cm)。

1.4.2　血清生化指标和肝脏抗氧化指标

血清生化指标采用日立自动生化分析仪(7020 型，Hitachi，日本)测定，测定指标主要包括：谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(AKP)、乳酸脱氢酶(LDH)活性及白蛋白(ALB)、甘油三酯(TG)、胆固醇(CHOL)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量。肝脏抗氧化指标使用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定，测定指标主要包括：总抗氧化能力(T-AOC)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)活性及丙二醛(MDA)含量。

1.4.3　饲料、全鱼及组织常规营养成分分析

试验样品的水分含量测定采用 105°C烘干恒重法(GB/T6435-2006) 测定;粗蛋白质含量采用凯氏定氮法(GB/T6432-2006) 测定;粗脂肪含量采用索氏抽提法(GB/T6433-2006) 测定;粗灰分含量采用马弗炉 550°C失重法(GB/T 6438-2007) 测定。

1.4.4　饲料及组织脂肪酸组成

饲料及组织的脂肪酸组成测定方法参考 Mourente 等[22]的气相色谱法，并稍作修改。取 100 mg 左右冷冻干燥后磨碎的样品，置于 15 mL 的顶空进样玻璃瓶中，加入 1 mol/L KOH-甲醇溶液 3 mL，放在 75 ℃水浴中加热 20 min，冷却至室温后，加入 2 mol/L HCl-甲醇溶液 3 mL，放在 75 ℃水浴中加热 20 min，冷却之后加入 1.5 mL 正己烷(色谱级)，振荡萃取，静置分层。小心吸取上层正己烷和脂肪酸甲酯的混合物，用微量进样器吸取 1 μL 注入气相色谱仪(HP5890Π，美国)中，采用火焰电离检测器检测。最后，根据标准脂肪酸出峰时间确定样品中脂肪酸种类，通过峰面积归一法计算各脂肪酸的相对含量。

1.5 数据统计分析

试验数据用平均值±标准误(mean±SE)表示，用 SPSS 19.0 分析软件对试验数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA)，并用 Tukey’s 检验方法对试验数据进行多重比较，当 $P<0.05$

时表示具有显著性差异。以 SGR 和 FE 为判据，采用折线模型估计珍珠龙胆石斑鱼幼鱼对ARA 的需求量。

2 结 果

2.1 饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能的影响

由表 3 可知，试验鱼的存活率介于 91.11%~100.00%，不同组间无显著差异(P>0.05)。当饲料 ARA 水平从 0.04%提高至 0.66%时，试验鱼的 SGR 呈上升趋势，且在 S4 组达到最高水平，显著高于 S1 组(P<0.05)；而当饲料 ARA 水平由 0.66%进一步提高至 2.16%时，试验鱼的 SGR 略有下降，但与 S4 组无显著差异(P>0.05)，试验鱼的 WGR 和 FE 呈现同 SGR 相似的变化趋势。

随着饲料 ARA 水平的升高，试验鱼的 HSI 呈先下降后上升的趋势，S3 和 S4 组试验鱼的 HSI 显著低于其他各组(P<0.05)，而 S6 组试验鱼的 HSI 显著高于其他各组(P<0.05)。试验鱼的 VSI 在 S3 组达到最低值，显著低于其他各组(P<0.05)，而 S5 和 S6 组试验鱼的 VSI 显著高于其他各组(P<0.05)。此外，各组试验鱼的 CF 无显著性差异(P>0.05)。

通过折线模型分析，在本试验条件下，当饲料中 ARA 水平为 0.45%时，珍珠龙胆石斑鱼幼鱼得到最大 SGR(图 1)；当饲料中 ARA 水平为 0.56%时，FE 达到最大值(图 2)。

表 3 饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能的影响

Table 3 Effects of dietary ARA level on growth performance of juvenile hybrid grouper

项目 Items	组别 Groups					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
初始体重 IBW/g	23.74±0.08	23.77±0.07	23.78±0.07	23.74±0.08	23.77±0.12	23.79±0.03
终末体重 FBW/g	72.77±0.35^{b}	74.58±1.16^{ab}	76.54±0.62^{b}	77.57±0.69^{b}	76.48±0.42^{b}	75.91±0.35^{ab}

存活率 SR/%	92.22±1.11	91.11±2.22	94.44±2.94	91.11±2.94	100.00±0	94.45±4.01
增重率 WGR/%	206.54±2.12^{c}	213.67±4.02^{bc}	221.85±1.66^{ab}	226.73±2.28^{a}	221.74±1.17^{ab}	219.05±1.16^{ab}
特定生长率 SGR/(%/d)	2.00±0.01^{c}	2.04±0.02^{bc}	2.09±0.01^{ab}	2.11±0.01^{a}	2.09±0.01^{ab}	2.07±0.01^{ab}
饲料效率 FE/%	145.23±2.79^{b}	146.74±1.18^{b}	156.64±2.61^{ab}	163.44±2.22^{a}	157.11±4.90^{ab}	151.93±3.72^{ab}
肝体比 HSI/%	7.96±0.02^{b}	7.92±0.06^{b}	7.49±0.04^{c}	7.57±0.06^{c}	8.18±0.13^{b}	8.54±0.06^{a}
脏体比 VSI/%	14.30±0.08^{b}	14.21±0.08^{b}	13.66±0.08^{c}	14.20±0.04^{b}	15.32±0.05^{a}	15.56±0.15^{a}
肥满度 CF/(g/cm^{3})	2.59±0.03	2.61±0.02	2.61±0.02	2.64±0.04	2.63±0.04	2.60±0.04

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著(P>0.05)，不同字母表示差异显著(P<0.05)。下表同。

In the same row, values with no or the letter same superscripts mean no significant difference(P>0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference (P＜0.05). The same as below.

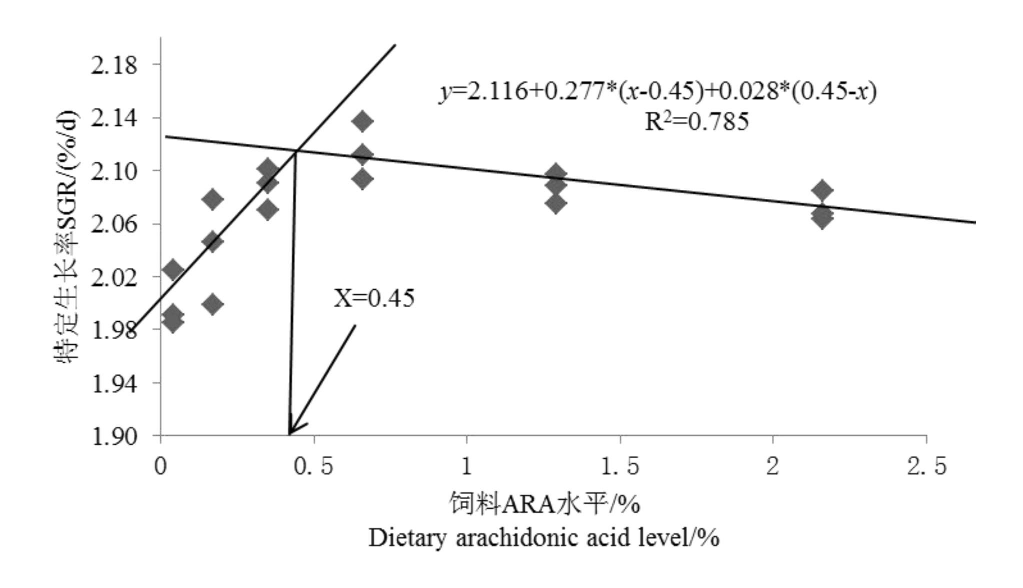


图 1　珍珠龙胆石斑鱼幼鱼 SGR 与饲料 ARA 水平的折线模型

Fig.1　The broken-line model of dietary ARA level and SGR of juvenile hybrid grouper

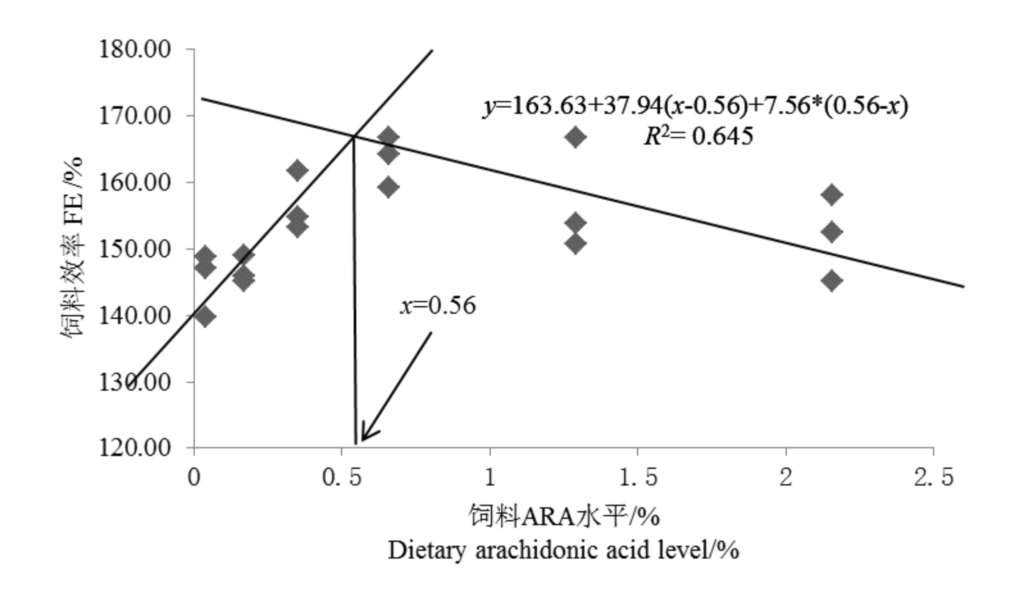


图 2　珍珠龙胆石斑鱼幼鱼的 FE 与饲料 ARA 水平的折线模型

Fig.2　The broken-line model of dietary ARA level and FE of juvenile hybrid grouper

2.2　饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼全鱼及组织常规营养成分的影响

由表 4 可知，全鱼粗脂肪含量随饲料 ARA 水平的升高呈先降低后升高的变化，S3 组全鱼粗脂肪含量最低，显著低于 S5 和 S6 组($P<0.05$)，而与 S1、S2 和 S4 组无显著差异($P>0.05$)，

S6 组全鱼粗脂肪含量最高，显著高于其他各组(P<0.05)。全鱼粗蛋白质含量呈现同全鱼粗脂肪含量相反的变化趋势，S3 组全鱼粗蛋白质含量最高，显著高于 S1、S5 和 S6 组(P<0.05)，与 S2 和 S4 组无显著性差异(P>0.05)。全鱼水分和粗灰分含量各组间无显著差异(P>0.05)。

当饲料 ARA 水平由 0.04%升至 0.35%时，肝脏粗脂肪含量从 28.21%降低到 20.43%，之后随着饲料 ARA 水平由 0.35%进一步提高到 2.16%，肝脏粗脂肪含量又从 20.43%升高到 29.01%，表现为 S3 组肝脏粗脂肪含量显著低于 S1、S5 和 S6 组(P<0.05)，同 S2 和 S4 组无显著差异(P>0.05)。随着饲料 ARA 水平由 0.04%升至 2.16%，试验鱼肌肉粗脂肪含量从 2.62%升高到 3.66%，在 S6 组达到最大值，显著高于 S1、S2 和 S3 组(P<0.05)。

表 4　饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼全鱼及组织常规营养成分的影响 (干物质基础)

Table 4　Effects of dietary ARA level on whole body and tissue common nutrition components of juvenile hybrid grouper (DM basis)　%

项目 Items	组别 Groups					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
全鱼水分 Whole body moisture	72.84±0.28	72.79±0.17	73.26±0.33	72.66±0.12	72.23±0.31	71.83±0.61
全鱼粗蛋白质 Whole body CP	60.73±0.21^{b}	61.13±0.27^{ab}	62.41±0.37^{a}	61.15±0.12^{ab}	58.53±0.57^{c}	56.92±0.36^{c}
全鱼粗脂肪 Whole body EE	15.18±0.38^{bc}	15.16±0.16^{bc}	15.03±0.28^{c}	15.52±0.07^{bc}	16.23±0.26^{b}	18.65±0.11^{a}
全鱼粗灰分 Whole body ash	15.62±0.69	16.07±0.57	16.30±0.22	16.59±0.31	15.32±0.19	15.68±0.38
肌肉粗脂肪 Muscle EE	2.62±0.14^{c}	2.74±0.15^{c}	3.00±0.12^{bc}	3.13±0.12^{abc}	3.62±0.13^{ab}	3.66±0.12^{a}

肝脏粗脂肪 Liver EE	28.21±1.33[a]	24.64±1.46[abc]	20.43±0.39[c]	21.81±0.52[bc]	26.51±0.74[ab]	29.01±1.01[a]

2.3 饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肝脏抗氧化指标的影响

由表 5 可知，肝脏中 SOD 活性随饲料 ARA 水平的升高呈先降低后升高趋势，其中 S3 和 S4 组显著高于其他各组(P<0.05)，而 S3 和 S4 组间无显著差异(P>0.05)；同时，肝脏中 CAT 活性和 T-AOC 均在 S4 组达到最高值，其中 T-AOC 显著高于 S1、S2、S5 和 S6 组(P<0.05)，CAT 活性显著高于 S1、S2 和 S6 组(P<0.05)。当饲料 ARA 水平从 0.04%提升到 0.66%时，肝脏中 MDA 含量显著降低(P<0.05)，而当饲料 ARA 水平由 0.66%进一步升高至 2.16%时，肝脏中 MDA 含量呈显著上升(P<0.05)，且在 S6 组达到最大值，显著高于 S3、S4 和 S5 组(P<0.05)，同 S1 和 S2 组无显著差异(P>0.05)。

表 5　饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肝脏抗氧化指标的影响

Table 5　Effects of dietary ARA level on antioxidant indices in liver of juvenile hybrid grouper

项目 Items	组别 Groups					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
超氧化物歧化酶 SOD/(U/mg prot)	52.42±0.33[b]	52.02±0.59[b]	57.09±0.97[a]	57.95±0.73[a]	53.10±0.63[b]	52.75±0.15[b]
总抗氧化能力 T-AOC/（U/mg prot）	0.48±0.01[bc]	0.47±0.02[c]	0.54±0.01[ab]	0.56±0.01[a]	0.48±0.01[bc]	0.47±0.01[c]
过氧化氢酶 CAT/(U/mg prot)	17.24±0.63[c]	18.57±0.83[bc]	25.34±0.52[a]	25.60±0.79[a]	24.28±0.56[a]	20.93±0.41[b]
丙二醛 MDA/(U/mg prot)	2.24±0.01[ab]	2.21±0.02[ab]	2.02±0.05[cd]	1.87±0.02[d]	2.10±0.04[bc]	2.26±0.03[a]

2.4 饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼血清生化指标的影响

由表 6 可知，随着饲料 ARA 水平的升高，血清中 ALT 活性表现出先降低后升高的趋势，并且 S3 和 S4 组血清中 ALT 活性显著低于 S1 和 S6 组(P<0.05)，同时血清中 AST、AKP 和 LDH 的活性均表现出同血清中 ALT 活性相似的变化趋势。

血清中 TG 含量随饲料 ARA 水平的升高呈先降低后升高的趋势，在饲料 ARA 水平为 0.35%~0.66%时，血清中 TG 含量处于相对较低水平，而饲料 ARA 水平进一步升高至 2.16%时，血清中 TG 含量达到最高，显著高于其他各组(P<0.05)。血清中 CHOL 含量随饲料 ARA 水平的升高呈逐渐增加的趋势，也在饲料 ARA 水平为 2.16%时达到最高，显著高于 S1 组(P<0.05)，而与其他组无显著差异(P>0.05)。同时，血清中 HDL-C 含量在 S3 和 S4 组处于较高水平，显著高于 S1 和 S6 组(P<0.05)，而与 S3 和 S4 组无显著差异(P>0.05)。血清中 LDL-C 含量呈现同血清中 HDL-C 相反的变化趋势。

表 6　饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼血清生化指标的影响

Table 6　Effects of dietary ARA level on serum biochemical parameters of juvenile hybrid grouper

项目 Items	组别 Groups					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
谷丙转氨酶 ALT/(U/L)	196.77 ±3.28^{a}	187.80 ±4.30^{ab}	176.57 ±1.68^{b}	173.57 ±2.49^{b}	184.43 ±2.95^{ab}	194.27 ±4.45^{a}
谷草转氨酶 AST/(U/L)	37.70 ±0.49^{a}	36.30 ±0.51^{a}	32.43 ±0.54^{bc}	31.30 ±1.22^{c}	35.23 ±0.62^{ab}	37.17 ±0.50^{a}
白蛋白 ALB/(g/L)	8.50 ±0.53	8.67 ±0.46	8.20 ±0.55	8.77 ±0.27	8.20 ±0.38	8.47 ±0.42
碱性磷酸酶	113.33	110.33	92.00	89.67	101.00	109.67

AKP/(U/L)	±2.33^{a}	±3.76^{a}	±2.08^{b}	±2.40^{b}	±2.65^{ab}	±5.21^{a}
乳酸脱氢酶	7.49	7.52	6.56	5.98	7.17	7.65
LDH/(U/L)	±0.29^{a}	±0.10^{a}	±0.14^{ab}	±0.41^{b}	±0.10^{a}	±0.20^{a}
胆固醇	3.59	3.91	4.26	4.54	4.44	5.19
CHOL/(mmol/L)	±0.17^{b}	±0.21^{ab}	±0.29^{ab}	±0.50^{ab}	±0.36^{ab}	±0.18^{a}
甘油三酯	0.64	0.62	0.49	0.52	0.68	0.83
TG/(mmol/L)	±0.04^{bc}	±0.04^{bc}	±0.04^{c}	±0.02^{c}	±0.02^{ab}	±0.03^{a}
高密度脂蛋白胆固醇	1.43	1.61	1.88	1.75	1.46	1.44
HDL-C/(mmol/L)	±0.05^{c}	±0.05^{bc}	±0.06^{a}	±0.05^{ab}	±0.04^{c}	±0.04^{c}
低密度脂蛋白胆固醇	0.41	0.38	0.31	0.28	0.39	0.42
LDL-C/(mmol/L)	±0.02^{a}	±0.01^{ab}	±0.02^{bc}	±0.02^{c}	±0.01^{ab}	±0.02^{a}

2.5 饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肝脏和肌肉脂肪酸组成的影响

由表 7、表 8 可知，随着饲料 ARA 水平的升高，试验鱼肝脏和肌肉中 C20:3n-6、C20:4n-6 和 n-6 PUFA 含量显著升高(P<0.05)，而 C18:1n-9、C18:1n-7、C18:3n-6、C20:5n-3、C22:6n-3 含量则有不同程度下降，但 C14:0、C16:0 含量在不同组间无显著差异(P>0.05)。另外，肌肉中 C18:0 和 C18:3n-3 含量随着饲料 ARA 水平的升高呈下降趋势，S6 组显著低于 S1 和 S2 组(P<0.05)，而肝脏中 C18:0 和 C18:3n-3 含量却均无显著变化(P>0.05)。随着饲料 ARA 水平的升高，肝脏中 C18:2n-6 含量呈升高趋势，S5、S6 组显著低于 S1 和 S2 组(P<0.05)，而肌肉中 C18:2n-6 含量却无显著变化(P>0.05)。

表 7　饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肝脏脂肪酸组成的影响(占总脂肪酸的百分比)

Table 7　Effects of dietary ARA level on liver fatty acid composition of juvenile hybrid grouper (percent of total fatty acids）　%

脂肪酸 Fatty	组别 Groups

acids	S1	S2	S3	S4	S5	S6
C14:0	3.46±0.37	3.77±0.17	3.29±0.12	3.75±0.22	3.33±0.10	3.13±0.10
C16:0	23.14±0.63	23.11±0.35	23.67±0.92	23.92±0.96	24.04±1.15	24.05±0.96
C18:0	5.90±0.05	6.04±0.28	6.17±0.13	5.56±0.13	5.89±0.09	5.90±0.15
C20:0	0.15±0.01[c]	0.16±0.01[c]	0.18±0.01[bc]	0.16±0.01[c]	0.22±0.01[ab]	0.26±0.01[a]
SFA	32.65±0.89	33.08±0.23	33.31±1.15	33.39±1.32	33.49±1.28	33.34±1.02
C16:1n-7	8.55±0.47	8.98±0.39	8.10±0.29	8.72±0.11	7.84±0.21	7.69±0.27
C18:1n-9	28.84±0.34[a]	27.49±0.35[ab]	26.58±0.53[abc]	27.35±1.07[ab]	25.57±0.90[bc]	24.00±0.35[c]
C18:1n-7	2.74±0.07[a]	2.64±0.05[ab]	2.64±0.05[ab]	2.54±0.12[ab]	2.32±0.08[b]	2.30±0.05[b]
C20:1n-7	2.31±0.10	2.08±0.07	2.18±0.03	2.10±0.04	2.13±0.06	2.15±0.04
C22:1n-9	2.31±0.10	2.08±0.07	2.18±0.03	2.10±0.04	2.13±0.06	2.15±0.04
MUFA	44.74±0.59[a]	43.28±0.34[ab]	41.67±0.88[abc]	42.81±1.26[ab]	39.99±1.19[bc]	38.30±0.49[c]
C18:2n-6	2.25 ±0.05[b]	2.21±0.10[b]	2.41±0.07[ab]	2.43±0.07[ab]	2.63±0.04[a]	2.69±0.05[a]
C18:3n-6	1.21±0.02[a]	1.16±0.04[ab]	1.15±0.04[ab]	1.17±0.03[ab]	1.13±0.07[ab]	1.01±0.04[b]
C20:3n-6	0.11±0.01[f]	0.19±0.01[e]	0.30±0.01[d]	0.42±0.01[c]	0.63±0.02[b]	0.74±0.01[a]
C20:4n-6	0.78±0.02[f]	1.67±0.06[e]	2.64±0.05[d]	3.57±0.13[c]	5.45±0.06[b]	6.39±0.12[a]
n-6 PUFA	4.35±0.08[f]	5.23±0.18[e]	6.50±0.15[d]	7.58±0.21[c]	9.83±0.17[b]	10.83±0.22[a]
C18:3n-3	0.31±0.01	0.30±0.02	0.31±0.03	0.25±0.01	0.24±0.01	0.23±0.02
C20:5n-3	2.25±0.08[a]	2.13±0.11[a]	2.01±0.08[a]	1.56±0.08[b]	1.23±0.06[bc]	0.91±0.03[c]
C22:5n-3	1.70±0.05[a]	1.55±0.04[ab]	1.58±0.03[ab]	1.50±0.09[ab]	1.38±0.05[b]	1.13±0.04[c]
C22:6n-3	6.87±0.19[a]	6.32±0.33[ab]	6.13±0.07[ab]	5.82±0.20[ab]	5.55±0.30[bc]	4.65±0.25[c]
n-3 PUFA	11.13±0.30[a]	10.31±0.42[ab]	10.03±0.08[ab]	9.13±0.34[bc]	8.40±0.40[cd]	6.92±0.28[d]
PUFA	15.48±0.38[b]	15.54±0.54[b]	16.54±0.22[ab]	16.71±0.55[ab]	18.23±0.56[a]	17.76±0.27[a]

n-3/n-6	2.56±0.03^{a}	1.97±0.07^{b}	1.54±0.03^{c}	1.20±0.02^{d}	0.85±0.03^{e}	0.64±0.03^{f}

表 8　饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肌肉脂肪酸组成的影响(占总脂肪酸的百分比)

Table 8　Effects of dietary ARA level on muscle fatty acid composition of juvenile hybrid grouper (percent of total fatty acids)　　%

脂肪酸 Fatty acids	组别 Groups					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
C14:0	2.14±0.06	2.16±0.07	2.04±0.06	2.12±0.06	1.92±0.10	1.84±0.06
C16:0	17.01±0.52	17.23±0.91	17.01±0.97	16.26±0.75	15.87±0.57	15.61±0.54
C18:0	12.79±0.12^{a}	12.67±0.34^{a}	12.60±0.28^{ab}	12.63±0.48^{a}	11.56±0.38^{ab}	10.79±0.55^{b}
C20:0	0.26±0.01^{c}	0.27±0.01^{c}	0.28±0.01^{bc}	0.33±0.03^{abc}	0.35±0.02^{ab}	0.40±0.01^{a}
SFA	32.21±0.67	32.35±1.30	31.93±0.82	31.35±1.21	29.69±0.91	28.64±1.14
C16:1n-7	3.23±0.04^{a}	3.18±0.22^{a}	2.71±0.23^{ab}	2.76±0.15^{ab}	2.44±0.08^{b}	2.18±0.08^{b}
C18:1n-9	14.38±0.32^{a}	14.37±0.85^{a}	13.89±0.81^{ab}	13.46±0.74^{ab}	11.84±0.36^{ab}	11.24±0.32^{b}
C18:1n-7	2.46±0.06^{a}	2.48±0.11^{a}	2.47±0.09^{a}	2.46±0.04^{a}	2.03±0.11^{b}	1.91±0.09^{b}
C20:1n-7	1.60±0.04^{a}	1.61±0.07^{a}	1.58±0.05^{a}	1.52±0.09^{ab}	1.34±0.06^{ab}	1.25±0.05^{b}
C22:1n-9	1.88±0.03	1.89±0.05	1.89±0.02	1.89±0.08	1.84±0.05	1.80±0.04
MUFA	23.55±0.47^{a}	23.53±1.23^{a}	22.53±1.17^{ab}	22.09±1.10^{ab}	19.49±0.59^{ab}	18.37±0.56^{b}
C18:2n-6	6.40±0.05	6.24±0.16	6.32±0.29	6.40±0.13	6.61±0.18	6.81±0.12
C18:3n-6	2.26±0.05^{a}	2.22±0.07^{a}	2.28±0.05^{a}	2.19±0.10^{a}	2.00±0.04^{ab}	1.80±0.09^{b}
C20:3n-6	0.12±0^{e}	0.25±0.01^{d}	0.36±0.03^{d}	0.56±0.04^{c}	0.96±0.03^{b}	1.36±0.02^{a}
C20:4n-6	1.30±0.05^{f}	2.51±0.08^{e}	4.48±0.11^{d}	5.91±0.20^{c}	10.52±0.21^{b}	14.74±0.38^{a}
n-6 PUFA	10.07±0.05^{f}	11.23±0.17^{e}	13.45±0.36^{d}	15.06±0.21^{c}	20.09±0.14^{b}	24.71±0.18^{a}
C18:3n-3	0.83±0.04^{a}	0.78±0.04^{ab}	0.67±0.06^{abc}	0.68±0.02^{abc}	0.65±0.02^{bc}	0.58±0.01^{c}

C20:5n-3	5.34±0.15^{a}	4.63±0.20^{b}	4.55±0.13^{bc}	4.18±0.02^{bc}	4.01±0.10^{cd}	3.56±0.06^{d}
C22:5n-3	2.01±0.09	1.85±0.17	1.80±0.26	1.57±0.19	1.53±0.08	1.38±0.08
C22:6n-3	16.00±0.36^{a}	14.93±0.36^{ab}	14.82±0.32^{abc}	13.68±0.25^{bcd}	13.22±0.45^{cd}	12.89±0.24^{d}
n-3 PUFA	24.17±0.61^{a}	22.18±0.63^{ab}	21.84±0.71^{abc}	20.11±0.36^{bcd}	19.41±0.61^{cd}	18.41±0.36^{d}
PUFA	34.24±0.64^{c}	33.41±0.80^{c}	35.29±1.05^{c}	35.17±0.56^{c}	39.50±0.70^{b}	43.12±0.53^{a}
n-3/n-6	2.40±0.06^{a}	1.97±0.03^{b}	1.63±0.02^{c}	1.34±0.01^{d}	0.97±0.03^{e}	0.75±0.01^{f}

3 讨 论

3.1 饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能的影响

本研究中，饲料中适宜水平(0.35%~0.66%)的 ARA 对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼的 WGR、SGR 与 FE 均能产生一定的促进作用，这表明珍珠龙胆石斑鱼幼鱼需要一定量的 ARA 来维持正常生长与生理功能。这同先前在其他鱼类上的研究结果相近，如 Xu 等[6]在鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)幼鱼中的研究表明，当饲料中 ARA 水平为 0.36%~0.56%时，鲈鱼幼鱼的生长效果最佳；Furuita 等[23]研究报道，牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)亲鱼对 ARA 的最适需求量为 0.6%；王成强等[9]研究表明，以 SGR 和 FE 为评定指标时，大规格鲈鱼[(207.16±0.72) g]对 ARA 的需求量均为 0.37%。另外，在牙鲆仔稚鱼[24]、欧洲鲈鱼(*Dicentrarchus labrax*)稚鱼[25]和半滑舌鳎稚鱼[26]上的研究均表明海水仔稚鱼对 ARA 具有更高的需求量。同时，也有学者报道了饲料中 ARA 并不能对鱼类的生长产生显著的促进作用[8, 27]。这些研究结果的差异可能与养殖鱼种及规格、养殖环境、研究方法等有关。

本研究发现饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长的影响呈现剂量效应，中等水平(0.66%)ARA 可使珍珠龙胆石斑鱼幼鱼获得最佳的生长性能，ARA 水平过高或缺乏时均影响珍珠龙胆石斑鱼幼鱼的生长。在对鲈鱼[6,9]、大菱鲆[28]等的研究中也发现了类似的结果。这一系列研究均表明，饲料中 ARA 水平过高可能会对机体的发育产生抑制作用，产生这种抑制的原因可能是因为饲料中过多的 ARA 抑制了体内 EPA 的生物转化，而且 DHA 与 EPA

比例的不平衡不仅会影响鱼体的正常生长，同时也可能会掩盖 ARA 对鱼体的营养作用[23]。

通过分析形体指标发现，随饲料 ARA 水平升高，珍珠龙胆石斑鱼幼鱼 HSI 与 VSI 均在 S6 组达到最大值，显著高于其他各组。这一结果表明，饲料中过高的 ARA 水平，一方面可能会导致鱼体肝脏受到一定损伤，肝脏代谢受限；另一方面可能导致鱼体无法完全吸收 ARA，使其得在机体中沉积，导致机体脂肪含量过高[12,29]。同时，在鲈鱼[6,9]以及军曹鱼(*Rachycentron canadum*)[30]的试验中，也得到了类似的研究结果。

3.2　饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼全鱼及组织常规营养成分的影响

本试验中珍珠龙胆石斑鱼幼鱼全鱼和肝脏中粗脂肪含量均在 S3 组最低，显著低于 S5 和 S6 组，另外，S3 组幼鱼肝脏粗脂肪含量显著低于 S1 组。这说明适量的 ARA 能够有效降低鱼体和肝脏中粗脂肪含量，但具体调控机理有待于进一步研究。这与王成强等[29]在鲈鱼中的研究结果相一致，其研究表明，当饲料中 ARA 水平在 1.38%~2.32%时，鲈鱼肝脏脂肪氧化相关基因[过氧化物酶体增殖剂激活受体-α(*PPAR-α*)和肉碱棕榈酸转移酶-Ⅰ(*CPT*-I)]表达量显著降低，鲈鱼全鱼和肝脏中粗脂肪含量显著升高，而当饲料中 ARA 水平在 0.37%~0.60%时，鲈鱼全鱼和肝脏中粗脂肪含量较低。另外，Tian 等[8]研究报道，草鱼鱼体粗脂肪含量在饲料 ARA 水平为 0.30%时最低，显著低于饲料 ARA 水平为 0.03%和 0.60%时。由此可以推测，饲料中适量的 ARA 能够降低机体及组织中粗脂肪含量，而 ARA 过量或不足均能影响机体及组织中脂肪的正常代谢，造成脂肪沉积过多。

3.3　饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼抗氧化能力的影响

研究证实，饲料中适量的 ARA 对鱼体的抗氧化能力具有一定的增强作用，肝脏作为机体最主要的代谢器官，其抗氧化能力可以间接反映鱼体本身的抗氧化水平[31]。机体的抗氧化能力主要包括与抗氧化能力密切相关的酶的活性和衡量受损伤程度的代谢产物的含量 2 个方面，前者主要是反映机体抗氧化系统功能的综合水平，主要包括 T-AOC、SOD 等；后者主要是反映机体细胞受自由基攻击的严重程度，主要包括 MDA 等[32-33]。本研究中，肝脏

中 T-AOC 以及 SOD 和 CAT 活性均在 S4 组达到最高，显著高于 S1 与 S6 组；另外，肝脏中 MDA 含量却在 S4 组最低，显著低于 S1 与 S6 组。由此说明饲料中适宜水平(0.35%~0.66%)的 ARA 也能对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼肝脏抗氧化能力起到一定的促进作用，进一步证实了 ARA 对鱼体抗氧化能力的调节功能；同时，这也表明机体抗氧化能力与饲料 ARA 水平同样遵循剂量效应，饲料中 ARA 水平过高或过低均能降低机体抗氧化能力并损害肝脏健康，这同在大菱鲆[28]、鲈鱼[6,29]和刺参[16]上的研究结果相似。

3.4 饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼血清生化指标的影响

正常情况下血清中 AST 和 ALT 的活性很低，但当肝脏细胞受损或通透性改变后，血清 AST 和 ALT 的活性就会升高，因此这 2 个指标可以用来反映肝脏的受损情况，从而能够可以间接反映机体健康状况[34-35]。本研究结果显示，S3 和 S4 组珍珠龙胆石斑鱼幼鱼血清中 AST 和 ALT 活性显著低于 S1 和 S6 组，这说明饲料中适宜水平的 ARA 可能有利于试验鱼的肝脏健康。这与之前在大菱鲆[28]和草鱼[8]等上的研究结果相一致。此外，AKP 是生物体内碱性环境下水解磷酸酯的一组重要代谢调控酶，在机体非特异性免疫反应中发挥重要作用[36]。本试验结果显示，随饲料中 ARA 水平的变化，血清中 ALP 活性呈现同血清中 AST 和 ALT 活性相似的变化趋势，这也说明当饲料 ARA 水平在 0.35%~0.66%时能够提高机体的非特异性免疫能力。大多研究认为 ARA 影响机体免疫机制主要是因为其能够影响类二十烷酸的产生，以 ARA 为前体生成的类二十烷酸，主要是 2-系列前列腺素和 4-系列白细胞三烯，其在调节免疫细胞功能方面起着重要的作用[37]。另外，有研究表明 ARA 代谢衍生物前列腺 F_{2a} 能够促进肌原纤维的形成，可以限制肌肉组织的降解，而前列腺 E_2 则具有相反的作用[38]。由此可以推测，ARA 之所以能够影响机体免疫能力，可能主要是因为不同水平的 ARA 能导致体内代谢衍生物含量不同或前列腺 E_2 与前列腺 F_{2a} 比例不同，从而对机体的免疫机制起到不同的调控作用。同时，Li 等[39]通过体外细胞培养试验表明，ARA 能够显著影响大黄鱼头肾巨噬细胞的免疫及生理活性。

已有研究报道，饲料中的 n-3PUFA 能够降低肝脏中极低密度脂蛋白的分泌，增加乳糜颗粒的代谢和清除，从而降低血清中 TG 的含量[40-41]；而过高的 n-6 PUFA 容易引发机体炎症，造成肝脏功能受损[42]，从而容易导致血清中血脂代谢紊乱，TG 和 LDL-C 含量较高。本研究发现，血清中 TG、CHOL 和 LDL-C 含量均在 S6 组(ARA 水平最高组)达到最高值，这可能也暗示高水平的 ARA 可能会对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼的肝脏代谢产生较大负担，容易引起鱼体脂质代谢紊乱，因而影响了血脂的代谢与存储。HDL-C 是血浆中胆固醇运回肝脏一种方式，血清中 HDL-C 含量越高机体将胆固醇运回肝脏中的能力越强，机体心血管越健康。值得注意的是，本试验中 S3 和 S4 组试验鱼血清 HDL-C 含量显著高于 S1 和 S6 组，从而也证明 S3 和 S4 组试验鱼机体健康处于较佳水平。结合上述试验鱼全鱼和肝脏中粗脂肪含量的研究结果，可以推测饲料中适宜水平的 ARA 可能对鱼体的脂质代谢起到积极的作用，而过高或过低的 ARA 水平可能影响鱼体及组织中脂质的正常代谢，造成脂肪沉积过多，其相关的调控机制有待于进一步深入研究。

3.5 饲料 ARA 水平对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼组织脂肪酸组成的影响

一系列研究表明，鱼体及组织脂肪酸组成受到饲料脂肪酸组成的影响，本研究试验结果也得到了相一致的结论。本试验中，肝脏和肌肉中 n-6 PUFA(C18:2n-6、C18:3n-6、C20:3n-6 和 C20:4n-6)含量反映了其在饲料中的相应变化，而肌肉中 C18:2n-6 含量变化趋势不明显，这可能与 C18:2n-6 在机体中沉积率比较低有关。而肝脏和肌肉中饱和脂肪酸(SFA)和单不饱和脂肪酸(MUFA)却呈现同饲料组不同的变化趋势，这可能是因为鱼体内的 PUFA 具有优先保存的优势，而 SFA 和 MUFA 则被优先利用[43]。同时，肝脏和肌肉中 EPA 含量均与 ARA 含量呈相反的变化趋势，这同在半滑舌鳎[26]、鲈鱼[6]以及大菱鲆[28]中的研究结果相似。这可能是由于 EPA 和 ARA 本身存在相互竞争的关系，而高含量的 ARA 能在一定程度上抑制 EPA 竞争融入机体组织的能力[41]。

4 结　论

综上所述，在本试验条件下，饲料中适宜水平(0.35%~0.66%)的 ARA 能够促进珍珠龙胆石斑鱼幼鱼的生长，提高抗氧化能力与肝脏健康水平。以 SGR 与 FE 作为评价指标，经折线模型回归分析得出珍珠龙胆石斑鱼幼鱼饲料中 ARA 的适宜水平分别为饲料干重的 0.45%和 0.56%。

参考文献：

[1] HIGGS D A,DONG F M.Lipids and Fatty Acids[C]//STICKNEY R R.The encyclopedia of aquaculture.New York:JohnWiley and Sons,2000:476–496..

[2] KIRON V,THAWONSUWAN J,PANIGRAHI A,et al.Antioxidant and immune defences of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) offered plant oils differing in fatty acid profiles from early stages [J].Aquaculture Nutrition,2011,17(2):130-140.

[3] GILL R,T SUNG A,BILLIAR T.Linking oxidative stress to inflammation:toll-like receptors[J].Free Radical Biology and Medicine,2010,48(9):1121-1132.

[4] SKALLI A,ROBIN J H.Requirement of n-3 long chain polyunsaturated fatty acids for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles:growth and fatty acid composition[J].Aquaculture,2004,240(1/2/3/4):399-415.

[5] ZUO R T,AI Q H,MAI K S,et al.Effects of dietary n-3 highly unsaturated fatty acids on growth,nonspecific immunity,expression of some immune related genes and disease resistance of large yellow croaker (*Larmichthys crocea*) following natural infestation of parasites (*Cryptocaryon irritans*)[J].Fish & Shellfish Immunol,2012,32:249-258.

[6] XU H G,AI Q H,MAI K S,et al.Effects of dietary arachidonic acid on growth performance,survival,immune response and tissue fatty acid composition of juvenile Japanese seabass,*Lateolabrax japonicus*[J].Aquaculture,2010,307(1/2):75-82.

[7] TANG D G,CHEN Y Q,HONN K V.Arachidonate lipoxygenases as essential regulators of

cell survival and apoptosis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,1996,93:5241-5252.

[8] TIAN J J,JI H,OKU H,et al.Effects of dietary arachidonic acid (ARA) on lipid metabolism and health status of juvenile grass carp,*Ctenopharyngodon idellus*[J].Aquaculture,2014,430:57-65.

[9] 王成强,梁萌青,徐后国,等.大规格鲈鱼(*Lateolabrax japonicas*)对饲料中花生四烯酸的需求量[J].渔业科学进展,2016,37(5):46-55.

[10] KHOZIN-GOLDBERG I,COHEN Z,Pimenta-Leibowitz M,et al.Feeding with arachidonic acid-rich triacylglycerols from the microalga *Parietochloris incisa* improved recovery of guppies from infection with *Tetrahymena sp*[J].Aquaculture,2006,255(1/2/3/4):142-150.

[11] ATALAH E,HERNÁNDEZ-CRUZ C M,GANUZA E,et al.Importance of dietary arachidonic acid for the growth,survival and stress resistance of larval European seabass (*Dicentrarchus labrax*) fed high dietary docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids[J].Aquacuture Research,2011,42(9):1261-1268.

[12] 张圆琴,徐后国,曹林,等.饲料中花生四烯酸对发育前期大菱鲆亲鱼性类固醇激素合成的影响[J].水产学报 2017,41(4):588-601.

[13] XU H G,CAO L,ZHANG Y Q,et al.Dietary arachidonic acid differentially regulates the gonadal steroidogenesis in the marine teleost,tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*),depending on fish gender and maturation stage[J].Aquaculture,2017,468:378-385.

[14] MATINS D A,ROCHA F,CASTANHEIRA F,et al.Effects of dietary arachidonic acid on cortisol production and gene expression in stress response in Senegalese solo (*Solea senegalensis*) post-larvae[J].Fish physiology and biochemistry,2013,39(5):1223-1238.

[15] MARTINS D A,ENGROLA S,MORAIS S,et al.Cortisol response to air exposure in *Solea*

senegalensis post-larvae is affected by dietary arachidonic acid-to-eicosapentaenoic acid ratio[J].Fish physiology and biochemistry,2011,37(4):733-743.

[16] 王成强,李宝山,王际英,等.饲料中花生四烯酸含量对刺参生长性能、抗氧化能力及脂肪酸代谢的影响[J].中国水产科学,2018,25(3):555-566.

[17] 左然涛,李敏,吴反修,等.饲料中花生四烯酸对中间球海胆生长性能、性腺指数和肠道菌群组成的影响[C]//第十一届世界华人鱼虾营养学术研讨会摘要集.2017.

[18] RAHIMNEJAD S,BANG I C,PARK J Y,et al.Effects of dietary protein and lipid levels on growth performance,feed utilization and body composition of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*×*E. lanceolatus*)[J]. Aquaculture ,2015,446:283-289.

[19] 刘云,王际英,李宝山,等.蛋氨酸钴对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长、矿物元素沉积及肝脏酶活力的影响[J].中国水产科学,2016,23(3):574-583.

[20] 魏佳丽,王际英,宋志东,等.酶解磷虾粉替代鱼粉对珍珠龙胆石斑鱼幼鱼生长性能、体组成及血清生化的影响[J].渔业科学进展,2016,37(1):100-110.

[21] 曹伏君,陈思,梁华芳,等.不同饲料对珍珠龙胆石斑幼鱼生长性能的影响[J].水产科技情报,2016,43(2):66-71.

[22] MOURENTE G,DICK J R,BELL J G,et al.Effect of partial substitution of dietary fish oil by vegetable oils on desaturation and β-oxidation of [1-^{14}C]18:3n-3 (LNA) and [1-^{14}C]20:5n-3 (EPA) in hepatocytes and enterocytes of European seabass (*Dicentrarchus labrax* L.)[J]. Aquaculture,2005,248(1/2/3/4):173-186.

[23] FURUITA H,YAMAMOTO T,SHIMA T,et al.Effect of arachidonic acid levels in broodstock diet on larval and egg quality of Japanese flounder Paralichthys olivaceus[J].Aquaculture,2003,220(1/2/3/4):725-735.

[24] 刘镜恪,陈晓琳,李肖然,等.实验微粒饲料中花生四烯酸含量对牙鲆(*Paralichthys*

olivaceus)仔稚鱼生长、存活的影响[J].海洋与湖沼,2005,36(5):518-522.

[25] TORRENCILLAS S,ROMÁN L,RIVERO-RAMÍREZ F,et al.Supplementation of arachidonic acid rich oil in European sea bass juveniles (*Dicentrarchus labrax*) diets: Effects on leucocytes and plasma fatty acid profiles,selected immune parameters and circulating prostaglandins levels[J].Fish & Shellfish Immunology,2017,64:437-445.

[26] YUAN Y H,LI S L,MAI K S,et al.The effect of dietary arachidonic acid (ARA) on growth performance,fatty acid composition and ARA metabolism-related genes expression in larval half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*)[J].British Journal of Nutrition,2015,113(10):1518-1530.

[27] ASIL S M,KENARI A A,MIYANJI G R,et al.The influence of dietary arachidonic acid on growth,reproductive performance, and fatty acid composition of ovary,egg and larvae in an anabantid model fish,Blue gourami (*Trichopodus trichopterus*;Pallas,1770)[J]. Aquaculture,2017,476: 8-18.

[28] 谭青.n-3/n-6HUFA 对大菱鲆幼鱼生长、体组成、脂肪酸成分及免疫的影响[D].硕士学位论文.上海:上海海洋大学,2017:30-32.

[29] 王成强.饲料花生四烯酸、亚麻酸含量及亚麻酸/亚油酸比值对大规格鲈鱼生长性能、脂肪酸组成和脂肪沉积的影响[D]. 硕士学位论文.上海:上海海洋大学,2016:21-28.

[30] 刘亮.军曹鱼幼鱼对花生四烯酸的需求与调控[D].硕士学位论文.汕头:汕头大学,2008: 10-15.

[31] WINSTON G W,DI R T,GIULIO R T,et al.Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms[J].Aquatic Toxicolology,1991,19(2):137-161.

[32] FANG Y Z,YANG S,WU G Y.Free radicals,antioxidants and nutrition[J].Nutrition,2002, 18(10):872–879.

[33] VALKO M,RHODES C J,MONCOLA J M,et al.Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer[J].Chemico-Biological Interactions,2006,160(1):1–40.

[34] SONG Z D,LI P Y,WANG J Y,et al.Effects of fishmeal replacement with soy protein hydrolysates on growth performance, blood biochemistry,gastrointestinal digestion and muscle composition of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*)[J].Aquaculture,2014, 426-427:96-104.

[35] WANG L N,LIU W B,LU K L,et al. Effects of dietary carbohydrate/lipid ratios on non-specific immune responses,oxidative status and liver histology of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J].Aquaculture,2014,426:41-48

[36] 章龙珍,朱卫,王妤,等.饲料脂肪水平对点篮子鱼消化酶活性和血液主要生化指标的影响[J].海洋渔业,2014,36(2):170-176.

[37] ROWLEY A F,KNIGHT J,LLOYD-EVANS P,et al.Eicosanoids and their role in immune modulation in fish-a brief overview[J].Fish & Shellfish Immunology,1995,5(8):549-567.

[38] PALMER R M.Prostaglandins and the control of muscle protein synthesis and degradation[J]. Prostaglandins,Leukotrienes and Essential Fatty Acids,1990,39(2):95-104.

[39] LI Q F,AI Q H, MAI K S,et al.In vitro effects of arachidonic acid on immune functions od head kidney macrophages isolated from large yellow croaker (Larmichthys crocea)[J].Aquaculture,2012,330-333:47-53.

[40] DAVIDSON M H.Mechanisms for the hypotriglyceridemic effect of marine omega-3 fatty acids[J].The American journal of cardiology,2006,98(Suppl.1):27-33.

[41] SHEARER G C,SAVINOVA O V,HARRIS W S.Fish oil—How does it reduce plasma triglycerides [J].Biochimica et Biophysica Acta:Molecular and Cell Biology of Lipids,2012,1821(5): 843-851.

[42] ZUO R T,AI Q H,MAI K S,et al.Effects of conjugated linoleic acid on growth,non-specific immunity,antioxidant capacity,lipid deposition and related gene expression in juvenile large yellow croaker (*Larmichthys crocea*) fed soybean oil-based diets[J].British Journal of Nutrition,2013,110(7):1220-1232.

[43] FALK-PETERSEN S,SARGENT J R,FOX C,et al.Lipids in atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs from planktonic samples in Northern Norway[J].Marine biology, 1898,101(4):553-556.

Effects of Dietary Arachidonic Acid Level on Growth Performance, Antioxidant Ability, Serum Biochemical Parameters and Fatty Acid Composition in Liver and Muscle of Juvenile Hybrid Grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀×*Epinephelus lanceolatus* ♂)

WANG Chengqiang[1] WANG Jiying[1*] HUANG Bingshan[1] LI Baoshan[1] SUN Yongzhi[1]

WANG Xiaoyan[1] MA Changxing[2]

(1. *Shandong Provincial Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology, Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai* 264006*, China*; 2. *College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai* 201306*, China*)

Abstract: An 8-week feeding experiment was conducted to evaluate the effects of dietary arachidonic acid (ARA) level on growth performance, antioxidant ability, serum biochemical parameters and fatty acid composition in liver and muscle of juvenile hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀×*Epinephelus lanceolatus* ♂). Six isonitrogenous and isoenergetic diets were formulated with the ARA level of 0.04%, 0.17%, 0.35%, 0.66%, 1.29% and 2.16% (dry matter basis) (named S1, S2, S3, S4, S5 and S6, separately), respectively.Each diet had replicates and

*Corresponding author, professor, E-mail: ytwjy @126.com （责任编辑　菅景颖）

each replicate cultured 30 juvenile hybrid grouper with an initial body weight of （23.77±0.98) g. The results showed as follows: 1) the specific growth rate (SGR) and feed efficiency (FE) increased at first, and then decreased with the increase of dietary ARA level, which reaching their peaks at S4 group ($P<0.05$), and significantly higher than S1 group ($P<0.05$). The body and liver ether extract content of S3 group was the lowest, and significantly lower than that of S5 and S6 groups ($P<0.05$). 2) The activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), total antioxidant capacity (T-AOC) in liver of S4 group were no significantly differences with S3 group ($P>0.05$), but significantly higher than those of S1 and S6 groups ($P<0.05$). The malondialdehyde (MDA) content in liver of S3 and S4 groups was significantly lower than that of S1 and S6 groups ($P<0.05$). 3) The lowest values of the activities of aspartate aminotransferase (AST), cereal third transaminase (ALT) and alkaline phosphatase (AKP) in serum were found in S4 group, and significantly lower than those of S1 and S6 groups ($P<0.05$). 4) The contents of C20:3n-6 and C20:4n-6 in liver and muscle were significantly increased with the increase of dietary ARA level, but the contents of C18:3n-6, C20:5n-3 and C22:6n-3 were decreased with different extents. These results indicate that optimal dietary ARA level (0.35% to 0.66%) can improve the growth of juvenile hybrid grouper, and increase the antioxidant ability and liver health level. The broken-line model analysis based on SGR and FE indicate that the optimal level of dietary ARA is 0.45% and 0.56% of diet on dry matter basis for juvenile hybrid grouper, respectively.

Key words: *Epinephelus fuscoguttatus*♀×*Epinephelus lanceolatus*♂; arachidonic acid; growth performance; serum biochemical parameters; fatty acid composition